

SVEUČILIŠTE J. J. STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Jurica Šeput

Preddiplomski studij smjera Hortikultura

UTJECAJ BAKTERIZACIJE NA NODULACIJU I PRINOS GRAHA
(*Phaseolus vulgaris* L.)

Završni rad

Osijek, 2015.

SVEUČILIŠTE J. J. STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Jurica Šeput

Preddiplomski studij smjera Hortikultura

UTJECAJ BAKTERIZACIJE NA NODULACIJU I PRINOS GRAHA
(*Phaseolus vulgaris* L.)

Završni rad

Povjerenstvo za obranu završnog rada:

prof. dr. sc. Zlata Milaković, predsjednik

doc. dr. sc. Gabriella Kanižai Šarić, mentor

izv. prof. dr. sc. Irena Rapčan, član

Osijek, 2015.

SADRŽAJ

| | |
|--|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| <i>1.1. Povijesna i geografska pripadnost graha.....</i> | <i>2</i> |
| <i>1.2. Proizvodnja graha</i> | <i>3</i> |
| 1.2.1. Privredni značaj | 4 |
| <i>1.3. Morfološke osobine graha</i> | <i>5</i> |
| 1.3.1. Korijen | 5 |
| 1.3.2. Stabljika | 6 |
| 1.3.3. List | 6 |
| 1.3.4. Cvijet..... | 7 |
| 1.3.5. Plod | 7 |
| <i>1.4. Agroekološki uvjeti uzgoj.....</i> | <i>8</i> |
| 1.4.1. Potreba za temperaturom | 8 |
| 1.4.2. Potreba za vlagom | 9 |
| 1.4.3. Zahtjevi prema tlu | 9 |
| 1.4.4. Potreba za svjetlošću | 9 |
| <i>1.5. Agrotehnika proizvodnje graha</i> | <i>10</i> |
| 1.5.1. Plodored | 10 |
| 1.5.2. Obrada tla | 10 |
| 1.5.3. Ishrana graha | 11 |
| 1.5.4. Gnojidba..... | 12 |
| 1.5.5. Sjetva..... | 12 |
| 1.5.6. Berba | 13 |
| <i>1.6. Ciklus kruženja dušika u prirodi</i> | <i>13</i> |
| 1.6.1. Amonifikacija | 14 |
| 1.6.2. Nitrifikacija | 14 |
| 1.6.3. Denitrifikacija | 15 |
| 1.6.4. Fiksacija dušika..... | 16 |
| 2. MATERIJALI I METODE | 19 |
| 3. REZULTATI I RASPRAVA..... | 21 |
| 4. ZAKLJUČAK..... | 27 |
| 5. POPIS LITERATURE..... | 28 |
| 6. SAŽETAK..... | 30 |
| 7. SUMMARY..... | 30 |
| 8. POPIS TABLICA..... | 31 |

| | |
|---|-----------|
| 9. POPIS SLIKA..... | 32 |
| 10. POPIS GRAFIKONA | 33 |
| TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA | 34 |

1. UVOD

Grah (*Phaseolus vulgaris* L.) je kultura koja pripada porodici lepinjače (*Fabaceae* ili *Leguminosae*). Grah sadrži veliki udio bjelančevina i ugljikohidrata pa se zbog toga pretežno upotrebljava za ishranu ljudi. Nutritivna vrijednost graha (Tablica 1.) ne sastoji se samo u količini bjelančevina (25 – 30%), već i u sadržaju aminokiselina: tirozin (0,5%), triptofan (0,17 – 0,70%), lizin (0,68 – 2,18%), arginin (1,47 – 2,66%), histin, cistin i metionin (Spasojević i sur., 1984.).

Tablica 1. Sadržaj aminokiselina (g/100g) u uzorcima zrna domaćeg graha
(<http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/pasulj>)

| Aminokiseline | Domaći grah |
|----------------------|-------------|
| Arginin** | 0,3-1,6 |
| Lyzin* | 0,8-1,0 |
| Alanin | 1,6-2,1 |
| Threonin* | 0,5-0,7 |
| Glycin** | 0,3-1,6 |
| Valin* | 0,3-1,1 |
| Serin | 1,1-1,3 |
| Prolin | 0,2-0,6 |
| Isoleucin* | 0,8-0,9 |
| Leucin* | 1,7-1,9 |
| Methionin* | 0,3- 0,6 |
| Histidin* | 0,1 |
| Phenylalanin* | 0,05-0,4 |
| Glutamin** | 2,1-2,3 |
| Aspartamska kiselina | 2,1-2,4 |
| Cistein** | 0,1-0,2 |
| Tyrozin** | 0,5-0,7 |

Osim u prehrambenoj industriji, nadzemni dio biljke se upotrebljava i za ishranu stoke, a slama se koristi za ishranu ovaca, spremanje komposta ili za zaoravanje.

Grah je poželjna kultura u plodoredu zbog toga što ima sposobnost da u simbiozi s kvržičnim bakterijama vrši fiksaciju atmosferskog dušika. Isto tako, kvržice koje nastaju na korijenu nakon bakterizacije, usvajanjem dušika stvaraju veću količinu aminokiselina u sjemenu. Biljka je kratke vegetacije, a često služi i kao predkultura rajčici (*Solanum lycopersicum* L.) ili paprici (*Capsicum annuum* L.) zato što iza sebe ostavlja tlo obogaćeno dušikom. U Hrvatskoj su vrlo dobri agroklimatski uvjeti za rast i razvoj graha, ali je sve manje proizvođača koji ga uzgajaju.

1.1. Povijesna i geografska pripadnost graha

Neke vrste graha potječu iz Srednje i Južne Amerike (Slika 1.), a druge iz južne i jugoistočne Azije, to su pretežno tropski dijelovi te je to razlog zašto grah ima veliku potrebu za visokim temperaturama i veliku osjetljivost na niske temperature i mraz. Indijanci su ga na američkom kontinentu uzgajali puno prije dolaska Europljana, a u 16. stoljeću su ga Europljani prenijeli na naše prostore. Sjeverozapadnu Argentinu se smatra kao točkom porijekla graha, a praroditelj je *Phaseolus aboriginus* (Spasojević i sur., 1984.) Smatra se da je *Phaseolus angularis* najstariji pripadnik grupe graha porijeklom iz Azije (Indija, Burma, Indokina), ali do danas nije nađen u divljem stanju) (Spasojević i sur., 1984.). Smatra se da se na području Balkana počeo uzgajati od 17. stoljeća. Danas ima vrlo velik areal rasprostranjenosti, od 60° sjeverne do 50° južne geografske širine.

Domestifikacija graha vršila se na nekoliko geografski jako udaljenih mjesta (Todorović i sur., 2008.). Grah je po zrnu sličan vigni (*Vigna sinensis*, Endl.), koja je porijeklom iz Etiopije i drevna je kultura Starog svijeta pa je u većini jezika dobio svoje narodno ime prema nazivu vigne (Todorović i sur., 2008.).

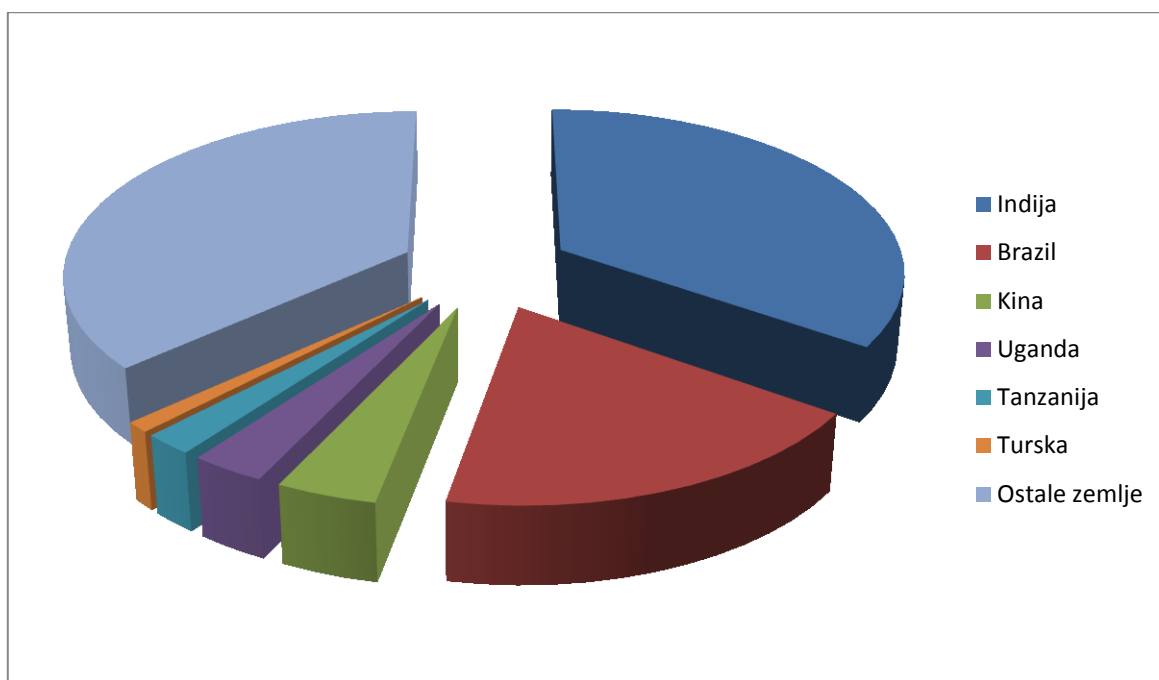


Slika 1. Centri porijekla, arheološka nalazišta prvog gajenog graha i njegovo prenošenje u Europu (Hidalgo i sur., 1986.)

1.2. Proizvodnja graha

Grah je uz pšenični kruh, krumpir i kupus najčešća namirnica koja se koristi u kućanstvu. Prema podacima iz 1939. godine, Jugoslavija je bila jedna od značajnijih europskih proizvođača graha (Todorovići sur., 2008.). Danas se proizvodnja najčešće odvija na manjim površinama i to bez navodnjavanja i sa što manjim prohodima mehanizacije. U proizvodnji graha najčešće se pojavljuju greške prilikom agrotehnike, što dovodi do poražavajućih rezultata jer je grah vrlo osjetljiva kultura zbog svoje kratke vegetacije i drugih bioloških činitelja. Na našim predjelima su se i klimatski uvjeti uvelike promijenili i to je dodatno utjecalo na smanjenje proizvođača graha. Ujedno su takvi vremenski uvjeti doveli do intenziviranja napada izazivača biljnih bolesti i kukaca (Todorović i sur., 2008.).

Prema podacima FAO (Grafikon 1.), najveće površine pod grahom nalaze se u Aziji (Todorović i sur., 2008.). Najveći svjetski proizvođači graha su Indija, Kina, Brazil, USA i Uganda (Todorović i sur., 2008.). U Europi su najveći proizvođači Turska, Rumunjska, Bugarska, Španjolska, ali Europi pripada samo 3% ukupne svjetske proizvodnje (Todorović i sur., 2008.).



Grafikon 1. Površine pod grahom u svijetu (FAO podaci) (Todorović i sur., 2008.)

1.2.1. Privredni značaj

Zbog svojih značajnih hranjivih vrijednosti, grah se najviše upotrebljava u ishrani. Za upotrebu se koristi zrelo ili zeleno zrno. Osim za ljudsku upotrebu, koristi se i kao stočna hrana, te u industriji za proizvodnju limunske kiseline (Spasojević i sur., 1984.). Sadrži poznata ljekovita svojstva i zbog toga se upotrebljava u medicini, ali i kao dijetalna namirnica. Zrno graha može se vrlo lako konzervirati i na taj način koristiti duž cijele godine. Današnje konzerviranje zrna graha podrazumijeva pravljenje gotovih ili polugotovih jela u kombinaciji s drugim namirnicama.

Grah je odličan predusjev za veliki broj kultura i zato ima značajnu ulogu u poljoprivredi. Zbog toga što se na korijenu graha stvaraju kvržične bakterije koje usvajaju atmosferski dušik, odlična je predkultura. Fiksirani dušik koristi za svoj rast i razvoj, a određena količina dušika ostaje pohranjena u tlu i služi za ishranu naredne kulture. Isto tako, zbog svoje kratke vegetacije ostaje dovoljno vremena da se tlo pripremi za iduću kulturu.

1.3. Morfološke osobine graha

1.3.1. Korijen

Korijen graha je srednje razvijen oblik korijena. Glavnina korijenovog sustava se nalazi na dubini oraničnog sloja i slabije je razvijena. Sastoji se od glavnog vretenastog korijena sa velikim brojem bočnih malih žila koje služe za usvajanje vode i hranjivih tvari. Na njima se stvaraju bakterijske kvržice preko kojih se fiksira atmosferski dušik (Slika 2.). Prilikom nicanja, odmah započinje grananje korijena i traje sve do kraja vegetacije. Najbrže se razvije na početku vegetacije i tada je korijen puno razvijeniji i jači nego ostatak biljke. Za razliku od ostalih pripadnika porodice *Fabaceae*, korijen graha je slabije razvijen.



Slika 2. Kvržice na korijenovom sustavu graha (<http://www.biovrt.com/article>)

1.3.2. Stabljika

Na početku vegetacije, stabljika graha je zeljasta, a kasnije djelomično odrveni. Naraste oko 30-40 cm kod niskih, te do 3m kod visokih sorata. Kod visokih sorata stabljika je povijuša i potreban joj je oslonac. Prema visini stabljike razlikujemo povijuše (1,3 – 5m), polupovijuše (do 130cm) i čučavce (do 60 cm). Visoke i srednje visoke stabljike spadaju u povijuše i polupovijuše, a niske u čučavce. Izvorni oblici graha su povijuše. Po boji stabljiku dijelimo na tamno zeleno, crvenkasto ili sa nijansama ljubičaste boje. Stabljika graha koje se završava cvijetom determinantnim je ili ograničenog rasta, najčešće je žbunasto i kod nas se zove čučavac (niski grah) (Todorović i sur., 2008.). Biljke s indeterminantnim ili neograničenim stablom imaju na vrhu vegetacijsku kupu iz koje se mogu stalno razvijati listovi, grane i cvjetovi (Todorović i sur., 2008.).

1.3.3. List

Biljka graha formira tri vrste listova. Prvi listovi su kotiledoni, jednostavne građe, nasuprotni su i srolikog oblika. Oni su bogati vodom i hranjivim tvarima što se vidi po njima jer su zadebljali i sočni. Nakon prvih listova, pravi listovi se pojavljuju naizmjenično na biljci i složene su trodijelne građe. Pravi listovi su svijetlije ili tamnije zelene boje, a kod nekih sorti mogu imati ljubičastu nijansu. Boja lista je sortno svojstvo. Površina lista je obrasla sitnim dlačicama. Na jednoj biljci može izrasti od 8 – 10 listova.

1.3.4. Cvijet

Cvjetovi se pojavljuju iz pazuška lisnih peteljki, najčešće u skupini od 2 – 6. Leptiraste su građe i nalaze se na kratkim stapkama (Slika 3.). Dužine su od 1,0 – 1,5 cm, dvospolni su, sastoje se od 5 čaškinih zelenih listova i 5 latica bijele, ružičaste, ljubičaste ili crvene boje. Donje dvije latice su srasle i tvore ladicu, a bočne su slobodne i čine krilca. Ima 10 prašnika od kojih je 9 međusobno sraslo, a 1 je slobodan (Todorović i sur., 2008.). Sorte graha koje imaju krupnije sjeme u pravilu imaju i veći cvijet. Grah je autogamna vrsta iako može biti i alogamna uz pomoć kukaca oprašivača. Vrlo rijetko se oplode svi cvjetovi jedne biljke.



Slika 3. Cvijet graha (<http://www.cvijet.info>)

1.3.5. Plod

Plod graha je dvokrilna mahuna različitih oblika, boje i veličine. Dužine su od 10 – 20 cm. Najčešće su zelene ili žute boje, a prema obliku ih dijelimo na prave, manje ili više izvijene. Oblik mahune je postojana osobina i ne mijenja se prilikom djelovanja vanjskih činitelja (Todorović i sur., 2008.). Grah zrnaš sadrži izraženo sklerenhimsko staničje koje tvori konce. Kada nastupi tehnološka zrioba, mahune su krhke i sočne. Prosječno se u mahuni razvije oko 10 sjemenki (Slika 4.)



Slika 4. Plod graha (<http://www.agroklub.hr>)

1.3.6. Sjeme

Sjemenke graha su različitog oblika i krupnoće. Dužine su od 1,0 – 2,0 cm, širine od 0,5 – 1,0 cm i najčešće 0,5 cm debele. Prema obliku ih dijelimo na okrugle, ovalne, eliptične i cilindrične (bubrežaste), što je ujedno i sortno svojstvo. Boja sjemenaka može biti bijela, siva, smeđa, crna, crvena, šarena, itd. Masa 1000 zrna sitnog sjemenaka je 350 grama, srednjeg 500 grama i krupnog 800 grama. Haploidan broj kromosoma je $n=11$ (Spasojević i sur., 1984.).

1.4. Agroekološki uvjeti uzgoj

1.4.1. Potreba za temperaturom

Grah ima velike potrebe za temperaturom zbog toga što sjeme počinje klijati na temperaturi od 8 – 10 °C, a mlade biljke su osjetljive na niske temperature, tj. na kasne proljetne mrazeve. Zbog toga se sjetva odvija kasnije. Visoka temperatura zraka sa niskim sadržajem vlage u tlu negativno utječe na razdoblje cvatnje i formiranje mahuna. U tom slučaju je smanjen prinos i mahune su lošije kvalitete. Cvjetovi mogu abortirati, što utječe na nejednoličnost dozrijevanja, tešku procjenu nepovoljnijeg vremena berbe i gotovo nemogućnost primjene mehanizirane jednokratne berbe (Matotan, 1994.). Optimalna temperatura u fazi sjetve iznosi od 20 – 23 °C, a tijekom vegetacije bi trebala biti 18 – 25 °C. U vrijeme cvatnje maksimalna temperatura iznosi 30 °C.

1.4.2. Potreba za vlagom

Grah ima umjerene zahtjeve za vodom, ali traži visoku vlagu zraka i to najviše u fazi cvjetanja. Transpiracijski koeficijent kod ove biljne vrste, a to je količina vode potrebna za izgradnju 1 kg suhe organske tvari, iznosi 748 (Lešić i sur., 1984.). Za pogodan rast i razvoj biljke, te zadovoljavajući prinos potrebno je oko 250 – 400 mm padalina ili 2500 – 4000 m³ vode po hektaru. Tla bi trebala biti dobro drenirana i vodopropusna s dobrim vodozračnim omjerom jer se veći dio korijenova sustava nalazi u oraničnom sloju. Voda se ne bi smjela zadržavati u površinskom sloju jer može doći do odumiranja korijena.

Sušu biljke najbolje podnose u prvom dijelu vegetacije, ali za vrijeme cvatnje i sazrijevanja mahuna nanosi jako veliku štetu. Evapotranspiracija je najveća početkom cvjetanja, a povećava se tijekom vegetacije.

1.4.3. Zahtjevi prema tlu

Kako bi se pospješio razvoj kvržičnih bakterija na korijenu graha, tla bi trebala biti rastresita, strukturna, blago kisele do neutralne reakcije (pH 6,5 – 7,5). Ako je tlo kiseliije, tada je potrebno provesti kalcifikaciju tla. Na tlima gdje je pH ispod 5 ili veći od 8 ova kultura ne uspijeva. Dodatna poteškoća kod kiselih tala je što se kvržične bakterije u takvoj sredini ne razvijaju iako se u zadnjih par godina uspio izolirati soj bakterija koji podnosi i kiselo okruženje. Potreban je dobar vodozračni režim kako bi u tlu bila dovoljna količina zraka i vode za razvoj korijenovog sustava. Za uzgoj najbolje odgovaraju černoze, kvalitetno aluvijalno zemljište i livadna crnica (Todorović i sur., 2008.).

1.4.4. Potreba za svjetlošću

Za rast i razvoj graha optimalna fotosintetska aktivnost radijacije (FAR) je oko 20 000 luksa (Todorović i sur., 2008.). Solidno podnosi zasjenjivanje, a najosjetljiviji je u prvim fazama razvoja. Ovisno od geografske širine mijenja se fotoperiodička reakcija, koja se manifestira i na morfološke karakteristike, kao i na prinos (Todorović i sur., 2008.). Većina

sorti graha je neutralna po pitanju dužine dana iako je po svome porijeklu biljka kratkog dana. Na prostorima gdje je moguće navodnjavanje, sorte kratkog dana su pogodne za strnu sjetvu.

1.5. Agrotehnika proizvodnje graha

1.5.1. Plodored

Grah je kao biljka odličan predusjev. Biljka je s kratkom vegetacijom pa ostavlja dovoljno vremena nakon žetve za pripremu terena za drugu kulturu. Preko kvržičnih bakterija fiksira dušik i pohranjuje u tlu određenu količinu koja će služiti za ishranu naredne kulture. Zbog svoje otpornosti, moguće je tretiranje herbicidima protiv korova i tlo nakon graha ostaje čisto od korova, dobrih fizikalnih osobina, te bogato dušikom.

U plodoredu grah zauzima drugo mjesto nakon usjeva gnojenog stajnjakom. Ne preporučuje se unošenje stajnjaka pod ove usjeve, naročito na plodnim zemljištima (Todorović i sur., 2008.). Postoji nekoliko kultura koje su dobri predusjevi za grah, a to su: kukuruz, kupus, luk, strne žitarice, rajčica, itd.

1.5.2. Obrada tla

Osnovna obrada kod graha ovisi uvijek o predusjevu. Ako su predusjevi strna žita redovno se u ljetnom periodu izvodi plitko oranje, prašenje strništa do 15 cm dubine (Todorović i sur., 2008.). Cilj ove mjere je isprovocirati nicanje korova, održavanje kemijskih i bioloških procesa u tlu i očuvanje vlage, te je ovu mjeru potrebno ponoviti par puta.

Najveću pažnju treba posvetiti dopunskoj obradi jer je proljetna i predsjetvena priprema tla izuzetno važna. Sastoje se od blagovremenog zatvaranja brazde kako bi sačuvali vlagu, zatim uključivanja različitih priključaka (tanjurače, kultivatori, te razna kombinirana oruđa) u cilju stvaranja rastresitog mrvičastog sloja tla kako bi posijano sjeme graha imalo što bolje i ujednačenije uvjete za nicanje (Todorović i sur., 2008.). Tijekom ovih operacija vrši se i poticanje nicanja korova pa se zbog toga treba ponoviti još barem jednom. Nakon posljednje

kultivacije, moguće je unošenje herbicida u tlo, a prije toga i gnojidba. Najbolji termin za obavljanje predsetvene pripreme tla je oko dva tjedna (14 dana) prije same sjetve.

1.5.3. Ishrana graha

Grah je biljna vrsta koja svojim prinosom na kraju vegetacije iznese velike količine hraniva iz tla. Prema istraživanjima Lešić i sur. (1981.), grah prinosom zrna od 2430 kg/ha iz tla je iznio: 87 kg/ha dušika, 27 kg/ha fosfora (P_2O_5) i 37 kg/ha kalija (K_2O) (Tablica 2.) (Todorović i sur., 2008.).

Tablica 2. Iznošenje hraniva prinosom (Todorović i sur., 2008.).

| Prinos od 1t glavnog proizvoda iznosi u kg | | | | |
|--|----|----------|--------|-----|
| | N | P_2O_5 | K_2O | CaO |
| Grah | 66 | 15 | 35 | 18 |

Za vrijeme početka rasta i razvoja biljke, najveću potrebu ima za kalijem i dušikom i to traje sve dok se na korijenovim dlačicama ne razviju kvržične bakterije. Isto tako, potreba za dušikom je povećana i krajem vegetacije zbog stvaranja bjelančevina u zrnju graha. Suvišak i manjak dušika slično se manifestira kao i kod drugih kultura, a skoro jednako utječu na smanjenje prinosa. Kod prevelike količine dušika nastupa prebujan rast biljke, fiksacija dušika izostaje jer velika količina dušika djeluje inhibitorno na bakterije. Uz sve to, biljka je slabija i pogodnija za napad štetnika.

Fosfor je, kao i kod svih drugih biljaka vrlo važan na samom početku vegetacije jer direktno utječe na razvoj korijenovog sustava biljke. Sama logika nalaže da, što je bolje razvijen korijenov sustav, to biljka bolje usvaja vodu i hranjive tvari, bolje podnosi sušu i

manjak transpiracije. Nedostatak fosfora je rijetka pojava, ali puno je veći problem slaba mobilnost fosfora u tlu isto kao i kod kalija (Todorović i sur., 2008.).

Što se tiče mikroelemenata, grah nema prevelike zahtjeve. U Hrvatskoj je rijetka pojava da postoji nedostatak nekog mikroelementa, osim ukoliko se radi o pjeskovitim tlima. Kod pjeskovitih tala jedan je od problema nedostatak magnezija, mangana, cinka, sumpora i bakra. Na razvoj korijenovih kvržica utječe i bor kojeg se unosi u količini od 0,5 kg/ha (Todorović i sur., 2008.).

1.5.4. Gnojdba

Gnojdba predstavlja agrotehničku mjeru koja ima funkciju da gajenim biljkama osigura dovoljnu količinu hraniva i da očuva, a po potrebi i poboljša plodnost zemljišta (Todorović i sur., 2008.). Danas postoji veći broj preporuka za količine čistih hraniva. Tako imamo preporuku: 35 – 40 kg/ha N, 70 kg/ha P_2O_5 i 80 kg/ha K_2O u predsjetvenoj pripremi zemljišta (Lešić i sur., 2002.). Druga preporuka je: 30 – 50 kg/ha N, 80 – 150 kg/ha P_2O_5 i 50 – 100 kg/ha K_2O koje treba unositi prilikom sjetve, i to u trake na dubinu od 5 cm, a 3 cm od sjemena (Đurovka, 1982.). Uz ove dvije preporuke postoji ih još nekoliko, a ona značajnija je: 60 – 200 kg/ha N, 54 – 300 kg/ha P_2O_5 i 120 – 230 kg/ha K_2O (Todorović i Vidović, 1878.)

1.5.5. Sjetva

Sjetva graha kao glavnog usjeva obavlja se kad se tlo na dubini 8 – 10 cm zagrije na 10 – 12 °C, a to je najčešće početkom svibnja (Matotan, 1994.). Sjetva se najčešće obavlja pneumatskim sijačicama. Razmak između redova mora biti 50 cm, a unutar reda 5 cm. Sjeme se prilikom sjetve ulaže u tlo na dubinu od 4 – 5 cm. Iz takvog sklopa obično izraste 30 – 40 biljaka po metru kvadratnom. Količina sjemena po hektaru varira o kalibraciji sjemena. Najčešće iznosi kao kod soje oko 100 kg/ha sjemena.

1.5.6. Berba

Berba se kod graha za industrijsku upotrebu odvija jednokratno, kombajnima, kada nastupi tehnološka zrioba koje se određuje prema razvijenosti zrna u mahunama. Najpovoljniji je rok jednokratne mehanizirane berbe kada je postotak zrna u najrazvijenijim mahunama oko 12% (Matotan, 1994.). Kod takve razvijenosti sjemena postiže se visoki prinos, duže skladištenje, mahune su otpornije na transport i održiva je kvaliteta zrna. Prinosi u ovakvim uvjetima kreću se od 10 – 15 t/ha.

1.6. Ciklus kruženja dušika u prirodi

Dušik (N_2) se u atmosferi nalazi u plinovitom stanju i zauzima prvo mjesto sa zastupljenošću od 78,09% volumno. Osim u atmosferi, dušik se u obliku nitrata, nitrita i amonijevih spojeva nalazi i u tlu. Svrstava se u grupu mineralnih spojeva jer se usvaja u mineralnom obliku. Vrlo je zastupljen i u ishrani ljudi jer je sastavni dio nukleinskih kiselina i proteina. Za prevođenje molekularnog dušika do amonijaka i nitrata, oblika u kojem ga usvajaju biljke, potrebna je ogromna količina energije (946 KJ). S druge strane, dušik se lako vraća u molekularno stanje u kojem je najstabilniji pa se lako gubi iz tla (Vukadinović i Lončarić, 1998.).

Kroz ciklus kruženja, dušik neprestano prelazi iz jednog oblika u drugi. Vrlo bitnu i neophodnu ulogu u kruženju dušika imaju mikroorganizmi koji razgrađuju proteine do aminokiselina, te od aminokiselina do amonijaka u procesu amonifikacije. Dušik biljke lako usvajaju u amonijevom obliku. Dio dušika koje biljke ne iskoriste u procesu nitrifikacije, oksidira do nitrata koji se u anaerobnim uvjetima reduciraju do plinovitog oblika dušika u procesu denitrifikacije. Takav oblik dušika odlazi u atmosferu i nepristupačan je za većinu organizama (Vukadinović i Lončarić, 1998.).

Biološki fiksatori elementarnog dušika su manja grupa mikroba koji imaju sposobnost usvajati molekularni dušik procesom biološke fiksacije. Fiksaciju mogu vršiti samostalno ili u simbiozi s višim biljkama (leguminozama).

1.6.1. Amonifikacija

Amonifikacija je proces kojim mikrobi razgrađuju proteine do amonijaka i odvija se u dvije faze. Prva faza je degradacija, a druga dezaminacija.

Degradacija se odvija u svim ekološkim uvjetima u tlu, a to je hidrolitički proces kojim mikrobi ekstracelularnim enzimima razgrađuju proteine do aminokiselina. Prvo proteazom razgrađuju proteine do peptida, a nakon toga, peptidazom peptide do aminokiselina.

Drugu fazu vrše intracelularni enzimi dezaminaze i naziva se dezaminacija. U drugoj fazi dolazi do transformacije aminokiselina do amonijaka:



Omjer ugljika i dušika u organskoj tvari jako utječe na proces amonifikacije. najpovoljniji C/N omjer bi trebao biti oko 20 – 25:1 da bi došlo do oslobađanja dušika u ovome procesu. Ukoliko je taj omjer C/N = 32 : 1, tada dolazi samo do biološke imobilizacije i sav amonijak usvajaju mikrobi, a ukoliko je užeg omjera od 20 : 1, dolazi samo do mobilizacije dušika (Vukadinović i Lončarić, 1998.).

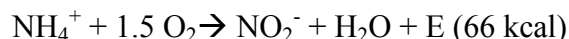
1.6.2. Nitrifikacija

Nakon amonifikacije slijedi proces nitrifikacije. To je proces biološke oksidacije amonijaka u specifičnim uvjetima, a taj proces obavljaju nitrofikatori tla. Nitrifikatori su nefotosintetski mikroorganizmi. Oni obavljaju sintezu ugljikohidrata za svoje potrebe na račun energije dobivene cijepanjem ugljikovih lanaca organske tvari tla, iz vode i CO₂ :



Nitrifikacija se odvija u dvije faze. One su međusobno povezane i u isto vrijeme se odvijaju u tlu. Prva faza se naziva nitritacija i obavljaju ju nitritne bakterije: *Nitrosomonas*

spp., *Nitrosospira spp.*, *Nitrosococcus spp.* i *Nitrosolobus spp.* (Vukadinović i Lončarić, 1998.). U prvoj fazi dolazi do oksidacije amonijaka do nitrita:



Druga faza se naziva nitratacija i u njoj dolazi do oksidacije nitrita do nitrata. Obavljaju je nitratne bakterije *Nitrobacter spp.*, *Nitrospira spp.* i *Nitrococcus spp.* (Vukadinović i Lončarić, 1998.).



1.6.3. Denitrifikacija

Denitrifikacija, u užem smislu je proces prilikom kojeg dolazi do redukcije nitrata do elementarnog dušika, a kao posljedica tog procesa je gubitak dušika iz tla.

Osim u užem smislu, postoji i denitrifikacija u širem smislu. To je, tzv. nitratna asimilacija. Prilikom tog procesa dolazi do redukcije nitrata do nitrita ili amonijaka, ali ne dolazi do gubitka dušika iz tla, već oni dalje sudjeluju u sintezi aminokiselina (Vukadinović i Lončarić, 1998.).

Prava denitrifikacija je mikrobiološki proces u kojem dolazi do redukcije nitrata preko nitrita do plinovitog oblika dušika pri čemu se dušik gubi iz tla.



Mikrobi koji vrše denitrifikaciju nazivaju se denitrifikatori i to su anaerobni ili fakultativno anaerobni organizmi iz rodova *Pseudomonas spp.*, *Serratia spp.*, *Micrococcus spp.*, *Achromobacter spp.* i *Thiobacillus spp.* (Vukadinović i Lončarić, 1998.).

1.6.4. Fiksacija dušika

Proces vezivanja atmosferskog dušika u spojeve koji su pristupačni biljkama i organizmima, naziva se fiksacija dušika. Može biti različite prirode te ju dijelimo na biološku fiksaciju i abiotsku fiksaciju. Biološku fiksaciju vrše živi organizmi, a abiotska se odvija bez prisutstva mikroorganizama. Biološka fiksacija se dijeli na simbioznu i nesimbioznu fiksaciju dušika.

1.6.3.1. Nesimbiozna fiksacija dušika

Uz pomoć energije oslobođene oksidacijom organske tvari tla, neke vrste bakterija, plavozelenih algi mogu vezati atmosferski dušik N_2 i koristiti ga za svoje potrebe. Poznajemo anaerobne, aerobne i fakultativno anaerobne živuće organizme koji mogu fiksirati dušik. Aerobni su *Azotobacter*, *Azospirillum* i *Beijerinckia*; od anaerobnih poznajemo *Clostridium pasteurianum*; dok od fakultativno anaerobnih poznajemo *Klebsiella* (Vukadinović i Lončarić, 1998.). Količina N vezane nesimbiotskim putem je nestalna, tj. promjenjiva zbog toga što veliki utjecaj na fiksaciju atmosferskog N_2 ima pH vrijednost tla, sadržaj nekih makro i mikroelemenata i potrebna je dovoljna količina organske tvari s određenim C:N omjerom (Vukadinović i Lončarić, 1998.).

1.6.3.2. Simbiozna fiksacija dušika

Bakterije iz roda *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium* i *Mesorhizobium* na korijenju biljaka iz porodice *Fabaceae* stvaraju nodule, tj. kvržice. Te kvržice su zapravo nakupine kvržičnih bakterija (Slika 5.). One žive u simbioznoj zajednici sa biljkom tako što opskrbljuju biljku sa dušikom, a od biljke dobivaju potrebne tvari za svoj život. Simbiotska fiksacija dušika najznačajnija za poljoprivrednu proizvodnju nastaje kao rezultat simbiotskih interakcija između kvržičnih bakterija i leguminoza, nakon čega slijedi



Slika 5. Kvržice na korijenu graha (Davor Kojić, 2013.)

infekcija i nodulacija (Topol i Kanižai – Šarić, 2013.). U proces simbiotske fiksacije dušika uključeni su genetski faktori kvržičnih bakterija i leguminoza u njihovom međusobnom prepoznavanju, infekciji, nodulaciji odnosno formiranju korijenovih kvržica, te odvijanju samog procesa fiksacije dušika iz atmosfere (Topol i Kanižai Šarić, 2013.). U stvaranju simbiotskog odnosa između biljaka i bakterija sudjeluju genetski faktori oba simbionta, tj. biljke i bakterije. Takav odnos započinje međusobnim prepoznavanjem oba simbionta, što dovodi do infekcije biljaka bakterijama. Na kraju stvaranja simbiotskog odnosa, na korijenovom sustavu biljke formiraju se kvržice u kojima se odvija proces simbiotske fiksacije atmosferskog dušika koji je pristupačan biljkama. Proces fiksacije dušika zahtijeva aktivnost enzima nitrogenaze koji djeluje kao katalizator u procesu redukcije molekule dušika i njegove promjene u amonijak i osigurava za to potrebnu energiju i elektrone (Postgate, 1982.).

Na rast i razvoj bakterija inhibitorno djeluje velika količina dušika u tlu, tj. ukoliko se u tlu nalazi dovoljna količina dušika koja je potrebna biljkama, bakterije se neće razvijati ili će njihov broj biti znatno manji. Isto tako, pH vrijednost ima utjecaj na razvoj bakterija. Ukoliko je neko tlo kiselo, tada je potrebno bakterije uzgojiti na kiseloj podlozi kako bi se privikle na takve uvjete. Bakterije su osjetljive i na neke druge vanjske uvjete, kao što je nedostatak vlage u tlu.

Pripravci koji se koriste za ovu vrstu simbiotske fiksacije dušika nazivaju se inokulanti za predsjetvenu bakterizaciju sjemena. Inokulanti sadrže različite sojeve bakterija koje će kasnije sudjelovati u simbiotskoj fiksaciji dušika sa određenom biljnom vrstom iz porodice

Fabaceae. *Rhizobium* i *Bradyrhizobium* inokulanti su korišteni stoljećima, ali istraživanja o njihovom optimalnom utjecaju još su uvijek u tijeku (Stephens, 2000.). Primarna korist od promicanja biološke fiksacije dušika (N_2) u zrnu i leguminozama za stočnu ishranu je povećanje prinosa bez korištenja umjetnog dušičnog gnojiva (Stephens, 2000.), koji može nerijetko negativno utjecati na okoliš te se sve više primjenjuje u poljoprivredi.

Ulazak Hrvatske u EU pogodio je proizvođačima inokulanata za predsjetvenu bakterizaciju sjemena. Tim datumom je stupila na snagu uredba o nitratnoj direktivi (Nitratna direktiva 91/676/ECC) čime se pokušava regulirati zagađenje okoliša nitratima. Naime, nitrati se vrlo lako ispiru iz tla i postoji opasnost od otjecanja u podzemne vode. Korištenjem inokulanata takav se problem izbjegava jer se u tlo unosi onoliko dušika koliko je biljci potrebno, a naknadnim zaoravanjem biljnih ostataka, osigurava se dovoljna količina dušika u tlu za iduću kulturu. Zbog toga poljoprivrednici sve više primjenjuju ekološki način unošenja dušika u tlo, tj. korištenje inokulanata za predsjetvenu bakterizaciju sjemena.

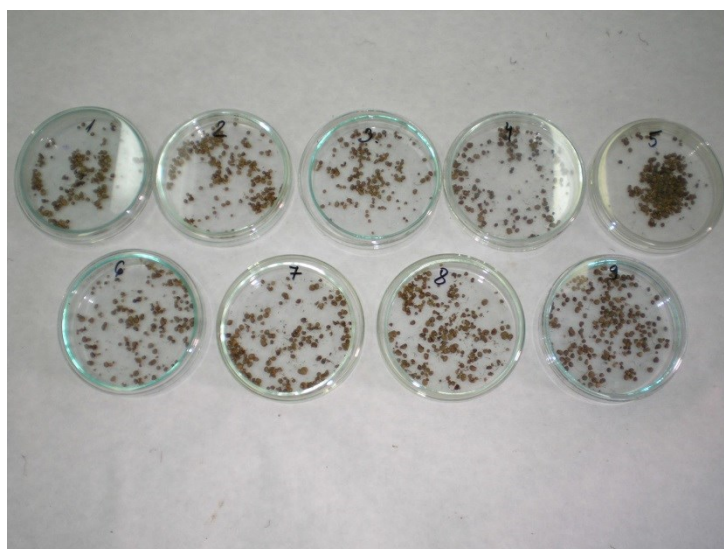
Cilj ovoga istraživanja je bio utvrditi utjecaj bakterizacije sjemena različitim sojevima *Rhizobium phaseoli*, potom utjecaj kultivara graha i gnojidbe dušikom na broj kvržica, masu suhe tvari kvržica, broj mahuna po jedinici površine, prinos zrna po jedinici površine i masu 1000 zrna.

2. MATERIJALI I METODE

Poljski pokus je proveden 2013. godine u Drenovcima (Vukovarsko-srijemska županija) na pseudogleju na zaravni. Površina osnovne parcele pokusa iznosila je 6 m², a pokus je postavljen po slučajnom blok planu u tri ponavljanja (Slika 6.). Predsjetveno je na cijelu površinu pokusa primijenjeno 70 kg/ha fosfora i 100 kg/ha kalija. Sjetva je obavljena ručno na međuredni razmak od 40 cm i dubinu od 5 cm. Neposredno prije sjetve izvršena je bakterizacija sjemena graha s dva soja: *Rhizobium phaseoli* DSM 30137 i *Rhizobium phaseoli* OS-72 (Nitrobakterin^G, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Katedra za mikrobiologiju i zemljišne resurse) koji su sadržavali 10x10⁹ CFU po gramu sterilnog treseta (prvi tretman). Ispitani su slijedeći kultivari: Super nano Giallo - grah mahunar niski (Sementi Dotto, Italija) i Lingua di Fuoco - grah zrnaš niski (Sementi Dotto, Italija) kao drugi tretman. Gnojidba dušikom (treći tretman) uključivala je tri varijante: 0, 30 i 60 kgN/ha u obliku uree. U punoj fazi cvatnje graha izvršeno je uzorkovanje biljaka sa svake parcele, te je utvrđen broj i masa suhe tvari kvržica po biljci (Slika 7.). Na kraju vegetacije je utvrđen broj mahuna po jedinici površine, prinos zrna i masa 1000 zrna. Za analizu klimatskih podataka korišteni su podaci Državnog hidrometeorološkog zavoda, meteorološka postaja Gradište. Dobiveni podaci su analizirani faktorijalnom analizom varijance a razlike između tretmana su ispitane Fisher LSD testom. Za statističku obradu podataka korišteni su Microsoft Excel (2013) i Statistika (StatSoft, 2012).



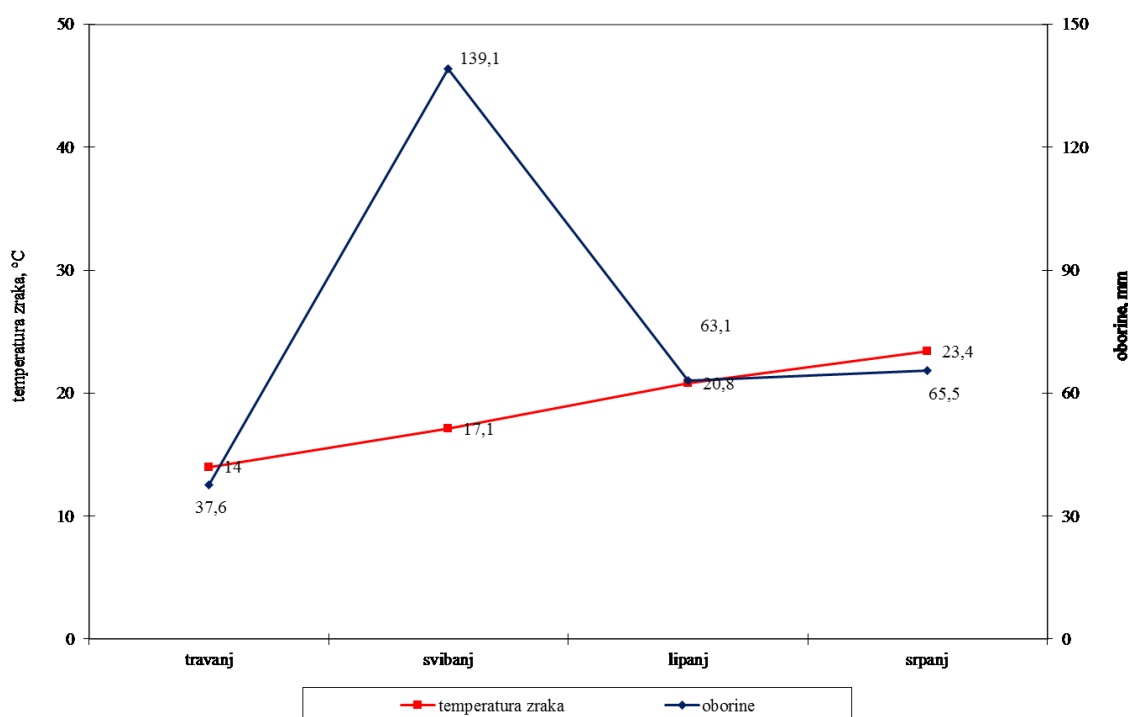
Slika 6. Postavljanje pokusa u Drenovcima (Davor Kojić, 2013)



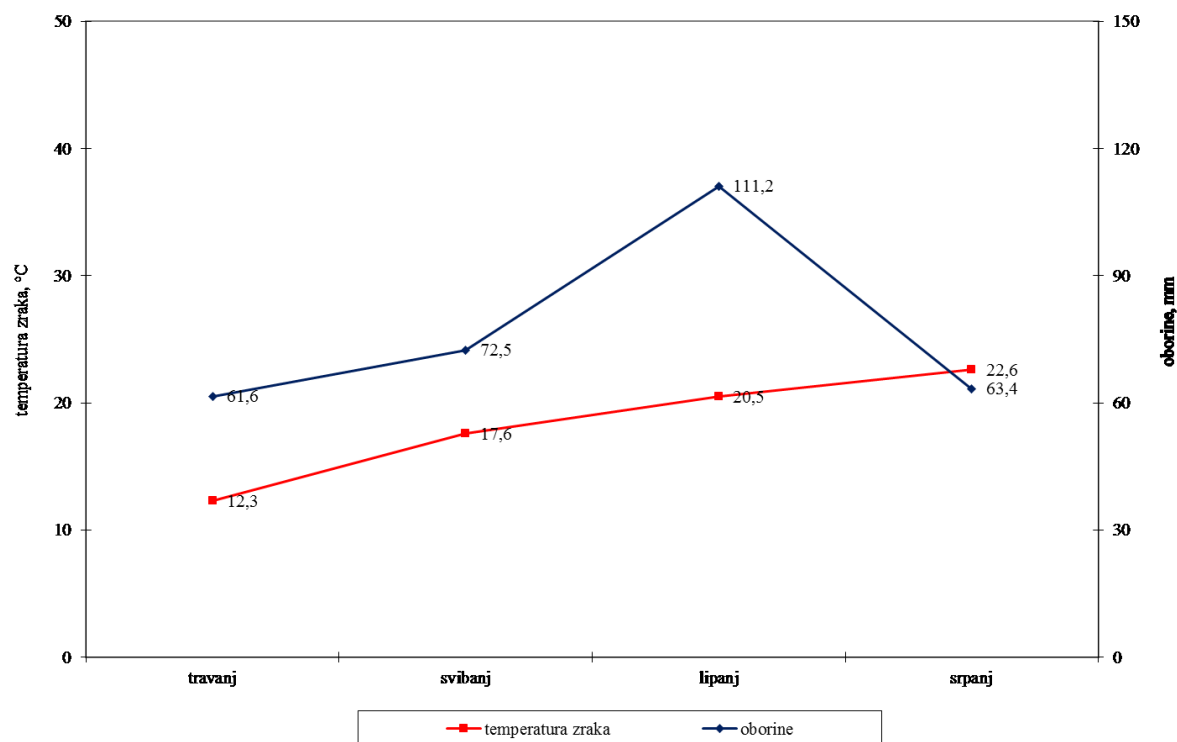
Slika 7. Laboratorijska analiza pokusa (Gabriella Kanižai Šarić, 2013.)

3. REZULTATI I RASPRAVA

U rasponu od 1981. godine do 2010. godine, usporedno sa 2013. godinom nije bilo većih temperaturnih oscilacija. Najveća promjena se odvija u travnju kada je temperatura u 2013. godini veća za 13,8% naspram višegodišnjeg prosjeka. Nešto veće oscilacije su vidljive u kod oborina. Najveća je u mjesecu svibnju 2013 godine kada je količina oborina bila veća za 91,86% naspram višegodišnjeg prosjeka. Nešto manje, ali isto uočljive promjene su bile u travnju i lipnju kada je količina oborina u 2013. godini bila veća za 39% i 43% (Grafikon 2. i Grafikon 3.).



Grafikon 2. Walter klima dijagram za vegetacijski period travanj-srpanj 2013. godini za lokaciju Drenovci (meteorološka postaja Gradište)



Grafikon 3. Walter klima dijagram za vegetacijski period travanj-srpanj od 1981.-2010. godine za lokaciju Drenovci (meteorološka postaja Gradište)

Formiranje kvržica i fiksacija dušika veoma su složeni procesi osjetljivi prema okolišnim i genetskim uvjetima koji utječu na biljke, bakterije i njihove interakcije (Hungria i Stacey, 1997.). Broj i masa kvržica predstavljaju indikatore učinkovitosti fiksacije dušika (Gwata i sur., 2004.). Između njih utvrđen je vrlo značajan pozitivan korelacijski koeficijent, koji je, također, pod utjecajem varijacija unutar genotipa i uvjeta okoline (Sinclair i sur., 1991.). Bakterizacijom sjemena graha autohtonim sojem *R. phaseoli* OS-72 utvrđen je najveći broj kvržica gdje su i ustanovljene statistički značajne razlike ($P < 0,05$) u odnosu na nebakterizirano sjeme graha (Tablica 3.). Najveća suha masa kvržica ostvarena je bakterizacijom sjemena graha sa sojem *R. phaseoli* DSM 30137 pri čemu je utvrđena statistički značajna razlika ($P < 0,05$) u odnosu na kontrolu. U kontrolnom tretmanu je također utvrđen znatan broj kvržica što znači da su u samome tlu prisutni određeni autohtoni sojevi kvržičnih bakterija koji su doveli do nodulacije. Poznato je da se različiti sojevi kvržičnih bakterija međusobno razlikuju po svojoj simbioznoj učinkovitosti, a glavna poteškoća kod uvođenja novih sojeva kvržičnih bakterija u određeni okoliš je problem kompeticije sa visokoadaptiranim autohtonim sojevima i ponekad s nepovoljnim uvjetima okoliša i zbog toga

je selekcija visoko učinkovitih sojeva od presudnog značaja u proizvodnji preparata za bakterizaciju (Sikora i Ređepović, 2000.). Na kultivaru Super nano Giallo utvrđen je statistički veći broj kvržica i ostvarena je veća suha masa kvržica po biljci ($P < 0,05$) u odnosu na kultivar Lingua di Fuoco. Povećanje gnojidbe dušikom (30 i 60 kg/ha) utječe na smanjenje broja kvržica po biljci za 81 odnosno 66% u odnosu na kontrolu ($P < 0,05$). Ovakvi rezultati su ustanovljeni u različitim domaćim i međunarodnim istraživanjima o djelotvornosti biološke fiksacije dušika koja su utvrdila negativan utjecaj gnojidbe mineralnim dušikom na broj i masu suhe tvari kvržica (Redžepović i sur., 1991.; Muller and Pereira, 1995.; Hungria i sur., 2006.). Utvrđene su također statistički vrlo značajne razlike ($P < 0,01$) u svim interakcijama na ispitivane parametre osim u masi suhe tvari kvržica u interakciji kultivar x gnojidba.

Tablica 3. Utjecaj tretmana na broj kvržica po biljci i masu suhe tvari kvržica

| Tretmani | Broj kvržica po biljci | Masa suhe tvari kvržica po biljci (g) |
|------------------------------------|------------------------|---------------------------------------|
| Bakterizacija | | |
| R- | 27,156 a | 0,04911 a |
| <i>R. phaseoli</i> DSM 30137 | 27,588 ac | 0,06667 b |
| <i>R. phaseoli</i> OS-72 | 27,700 bc | 0,04999 a |
| Kultivar | | |
| Grah mahunar | 34,512 a | 0,06578 a |
| Grah zrnaš | 20,452 b | 0,04466 b |
| Gnojdba N | | |
| 0 kgN/ ha | 33,400 a | 0,05923 a |
| 30 kgN/ha | 26,988 b | 0,07222 b |
| 60 kgN/ha | 22,056 c | 0,03511 c |
| Interakcije | | |
| Kultivar x bakterizacija | * ** | * ** |
| Kultivar x gnojdba | * ** | ns ns |
| Bakterizacija x gnojdba | * ** | * ** |
| Kultivar x bakterizacija x gnojdba | * ** | * ** |

R-: bez bakterizacije, vrijednosti označene istim slovom unutar kolone nisu statistčki značajno različite ($P < 0,05$) prema Fisherovom LSD testu. *, ** = značajna razlika ($P < 0,05$; $P < 0,01$), ns=nema značajne razlike.

Bakterizacijom sjemena sojem bakterija *R. phaseoli* DSM 30137 utvrđen je najveći broj mahuna po m² i masa 1000 zrna koje su statistički značajno veće ($P < 0,05$) u odnosu na nebakterizirano sjeme graha. (Tablica 4.). Najveći prinos zrna utvrđen je na nebakteriziranom tretmanu. Kultivar Lingua di Fuoco ostvario je statistički veći ($P < 0,05$) broj mahuna po m², masu 1000 zrna i prinos u odnosu na kultivar Super nano Giallo. Tretman u kojemu nije primijenjen dušik ostvario je najveći broj mahuna po m² ($P < 0,05$). Gnojidba s 60 kgN ha⁻¹ utjecala je na ostvarenje najveće mase 1000 zrna ($P < 0,05$). Najveći prinos je postignut s gnojidbom od 30 kgN/ha. Ovakav rezultat podudara se s istraživanjima Jensena (2006.) koji je utvrdio da grašak koristi samo mali dio dušika iz tla tijekom jedne vegetacijske sezone – oko 22 kg N/ha. Prema Dun i sur. (2006.) niska razina dušika u tlu inhibira rast grašaka i sprječava formiranje lateralnih grana dok prevelika količina mineralnog dušika uzrokuje produljenje glavnog i postranih izboja stabljike što dovodi do povećanja nadzemne biomase i pogoršava odnos vegetativnih i generativnih dijelova biljaka (Zajac i sur., 2013.). Sve ispitane interakcije su pokazale statističku značajnost ($P < 0,05$).

Tablica 4. Utjecaj tretmana na komponente prinosa graha

| Tretmani | Broj mahuna | Masa 1000 zrna | Prinos zrna |
|---------------------------------------|----------------|----------------|---------------------|
| | m ² | (g) | (g m ²) |
| Bakterizacija | | | |
| R- | 64,72 a | 836,31 a | 193,01 a |
| <i>R. phaseoli</i> DSM 30137 | 107,33 b | 866,98 b | 182,12 b |
| <i>R. phaseoli</i> OS-72 | 94,61 c | 780,16 c | 106,35 c |
| Kultivar | | | |
| Grah mahunar | 70,04 a | 649,62 a | 106,94,a |
| Grah zrnaš | 107,74 b | 1006,00 b | 214,04 b |
| Gnojdba N | | | |
| 0 kgN/ ha | 104,67 a | 817,58 a | 147,66 a |
| 30 kgN/ ha | 91,94 b | 831,23 b | 210,62 b |
| 60 kg N/ha | 70,06 c | 834,63 c | 123,20 c |
| Interakcije | | | |
| Kultivar x bakterizacija | * ** | * ** | * ** |
| Kultivar x gnojdba | * ns | * ** | * ** |
| Bakterizacija x gnojdba | * ** | * ** | * ** |
| Kultivar x bakterizacija x gnojdba | * ** | * ** | * ** |

R-: bez bakterizacije, vrijednosti označene istim slovom unutar kolone nisu statistčki značajno različite ($P < 0,05$) prema Fisherovom LSD testu. *, ** = značajna razlika ($P < 0,05$; $P < 0,01$), ns=nema značajne razlike.

4. ZAKLJUČAK

Grah je danas vrlo značajna biljka u prehrambenoj i prerađivačkoj industriji. Odličan je predusjev zbog povećane količine dušika koje ostavlja u tlu dok je u stočarstvu bitan izvor bjelančevina. Da bi se povećao prinos graha preporuča se korištenje predstetvene bakterizacije sjemena visokoučinkovitim sojevima *Rhizobium phaseoli*. Rezultati istraživanja pokazala su da je tretiranjem sjemena graha sojem bakterije *Rhizobium phaseoli* DSM 30137 ostvarena veća masa suhe tvari kvržica, broj mahuna i masa 1000 zrna u odnosu na nebakterizirano sjeme i soj *R. phaseoli* OS-72. Grah zrnaš kultivar Lingua di Fuoco je ostvario veći broj mahuna, masu 1000 zrna i prinos zrna u odnosu na grah mahunar kultivar Super nano Giallo. Gnojidba s 30 kgN/ha pokazala se optimalnom pri čemu je ostvarena najveća suha masa kvržica i prinos zrna graha. Potrebna su i daljnja istraživanja koja bi detaljnije razjasnila interakcije između bakterizacije sjemena graha, kultivara graha i gnojidbe dušikom. Također, potrebna su istraživanja koja bi uključila izolaciju i identifikaciju prisutnih autohtonih sojeva *Rhizobium phaseoli* iz tla, njihovo testiranje i uključivanje u sredstva za predstetvenu bakterizaciju sjemena graha.

5. POPIS LITERATURE

1. Dun, E., Ferguson, B., Beveridge, C. (2006.): Apical dominance and shoot branching. Divergent opinions or divergent mechanisms? *Plant Physiol.*, 142: 812–819.
2. Đurovka, M. (1982.): Uticaj sorte i đubrenja na dinamiku sadržaja N, P, K i Ca i prinos boranije. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet.
3. Gwata, E.T., Wofford, D.S., Pfahler, P.L., and Boote, K.J. (2004). Genetics of promiscuous nodulation in soybean: nodule dry weight and leaf color score. *J. Hered.* 95: 154–157.
4. Hungria, M., Franchini, J.C., Campo, R.J., Crispino, C.C., Moraes, J.Z., Sibaldelli, R.N.R., Mendes, I.C., Arihara, J. (2006.): Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. *Canadian Journal of Plant Sciences*, 86: 927–939.
5. Hungria, M., Stacey, G. (1997.): Molecular signals exchanged between host plants and rhizobia: basic aspects and potential application in agriculture. *Soil Biology and Biochemistry*, 29:819 - 830
6. Jensen, E.S. (1996.): Nitrogen acquisition by pea and barley and effect of their crop residues on available nitrogen for subsequent crops. *Biol. Fertil. Soils*, 23: 459–464.
7. Lešić, R., Borošić, J., Buturac, I., Ćustić, M., Poljak, M., Romić, D. (2002.): Povrćarstvo. Zrinski d.d., Čakovec.
8. Matotan, Z. (1994.): Proizvodnja povrća. Nakladni zavod Globus, Zagreb.
9. Muller, S. H., Pereira P. A. A. (1995.): Nitrogen fixation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by mineral nitrogen supply at different growth stages. *Plant and Soil*, 177: 55-61.
10. Redžepović, S., Sikora, S., Sertić, Đ., Manitašević, J., Šoškić, M., Klaić, Ž. (1991.): Utjecaj fungicida i gnojidbe mineralnim dušikom na bakterizaciju i prinos soje. *Znanost i praksa u poljoprivrednoj tehnologiji*, 21: 43-49.
11. Postgate, J.R. (1982.): The fundamentals of nitrogen fixation. Cambridge University, Cambridge.
12. Redžepović S., Sikora S., Sertić Đ., Manitašević J., Šoškić M., Klaić Ž. (1991): Utjecaj fungicida i gnojidbe mineralnim dušikom na bakterizaciju i prinos soje. *Znan. Prak. Poljop. Tehnol.* 21: 43-49.

12. Sikora, S., Redžepović, S. (2000.): Identification of Indigenous *Bradyrhizobium japonicum* Strains Isolated from Different Soil Types in Western Slavonia. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 65 (4): 229-236.
13. Spasojević, B., Stanačev, S., Starčević, LJ., Marinković, B. (1984.): Posebno ratarstvo I (Uvod, žita i zrnene mahunjače). Univerzitet u Novom Sadu.
14. Stephens, J.H.G., Rask, H.M. (2000.): Inoculant production and formulation. *Field Crops Research*, 65 : 249-258
15. Todorović, J., Vasić, M., Todorović, V. (2008.): Pasulj i boranija. Poljoprivredni fakultet Banja Luka i Poljoprivredni institut Novi Sad.
16. Topol, J., Šarić Kanižai, G. (2013.): Simbiotska fiksacija dušika u ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji. *Agronomski glasnik*, 75 (2): 117-134.
17. Vukadinović, V., Lončarić, Z., (1998.): Ishrana bilja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Osijek
18. Zając, T., Klimek-Kopyra, A., Oleksy, A. (2012): Effect of *Rhizobium* inoculation of seeds and foliar fertilization on productivity of *Pisum sativum* L. *Acta agrobotanica*. 66 (2): 71–78

6. SAŽETAK

Grah je danas jedna od bitnijih kultura koja se primjenjuje u prehrambenoj i prerađivačkoj industriji. U Hrvatskoj se poljoprivredna gospodarstva rijetko okreću prema uzgoju te kulture iako se smatra dobrim predusjevom. U ovom radu je izvršeno istraživanje o utjecaju bakterizacije sjemena graha različitim sojevima *Rhizobium phaseoli*, kultivara graha i gnojidbe dušikom na nodulaciju i neke komponente prinosa i sam prinos graha. Rezultati su pokazali da je predstajvena bakterizacija sjemena graha zrnaša *Lingua di Fuoco* sa sojem *R. phaseoli* DSM 30137 pri gnojidbi od 30 kgN/ha ostvaren optimalan prinos graha. S obzirom na prisutnu autohtonu populaciju kvržičnih bakterija u tlu neophodna su daljnja istraživanja koja bi razjasnila interakcije između bakterizacije sjemena, kultivara graha i optimalne gnojidbe dušikom.

Ključne riječi: grah, bakterizacija, gnojidba, kvržice, komponente prinosa, prinos

7. SUMMARY

Beans is one of the most important crop that is used in the food and processing industry. In Croatia, the farmers rarely turning to the cultivation of this crop, although it is considered as a good precrop. This paper presents research on the influence of beans seed bacterization, bean cultivars and nitrogen fertilization on nodulation some yield components and yield of beans. The results showed that the inoculation of beans seeds cv. *Lingua di Fuoco* with *R. phaseoli* strain DSM 30137 in the fertilization of 30 kg N/ha achieved optimum yield of beans. Due to the presence of indigenous population of rhizobia in the soil further studies are necessary to clarify the interaction between seed inoculation, cultivars of beans and the optimum nitrogen fertilization.

Key words: beans, bacterization, fertilization, nodules, yield components, yield

8. POPIS TABLICA

| | |
|---|----|
| Tablica 1. Sadržaj aminokiselina (g/100g) u uzorcima zrna domaćeg graha (http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/pasulj)..... | 1 |
| Tablica 2. Iznošenje hraniva prinosom (Todorović i sur., 2008.)..... | 11 |
| Tablica 3. Utjecaj tretmana na broj kvržica po biljci i masu suhe tvari kvržica..... | 24 |
| Tablica 4. Utjecaj tretmana na komponente prinosa graha..... | 26 |

9. POPIS SLIKA

| | |
|--|----|
| Slika 1. Centri porijekla, arheološka nalazišta prvog gajenog graha i njegovo prenošenje u Europu (Hidalgo i sur., 1986.)..... | 3 |
| Slika 2. Kvržice graha na korijenovom sustavu graha (http://www.biovrt.com/article)..... | 5 |
| Slika 3. Cvijet graha (http://www.cvijet.info)..... | 7 |
| Slika 4. Plod graha (http://www.agroklub.hr)..... | 8 |
| Slika 5. Kvržice na korijenu graha (doc.dr.sc. Gabriella Kanižai Šarić, 2013.)..... | 17 |
| Slika 6. Postavljanje pokusa u Drenovcima (doc.dr.sc. Gabriella Kanižai Šarić, 2013.)..... | 20 |
| Slika 7. Laboratorijska analiza pokusa (Davor Kojić, 2013.)..... | 20 |

10. POPIS GRAFIKONA

Grafikon 1. Površine pod grahom u svijetu (FAO podaci)

(Todorović i sur., 2008.).....4

Grafikon 2. Walter klima dijagram za vegetacijski period travanj – srpanj 2013. godini za lokaciju Drenovci (meteorološka postaja Gradište).....21

Grafikon 3. Walter klima dijagram za vegetacijski period travanj – srpanj od 1981. – 2010. godine za lokaciju Drenovci (meteorološka postaja Gradište).....22

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište J. J. Strossmayera

Poljoprivredni fakultet Osijeku

Završni rad

UTJECAJ BAKTERIZACIJE NA NODULACIJU I PRINOS GRAHA (*Phaseolus vulgaris* L.)

INFLUENCE OF BACTERIZATION ON NODULATION AND YIELD OF BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.)

Jurica Šeput

Sažetak:

Grah je danas jedna od bitnijih kultura koja se primjenjuje u prehrambenoj i prerađivačkoj industriji. U Hrvatskoj se poljoprivredna gospodarstva rijetko okreću prema uzgoju te kulture iako se smatra dobrim predusjevom. U ovom radu je izvršeno istraživanje o utjecaju bakterizacije sjemena graha različitim sojevima *R. phaseoli*, kultivara graha i gnojidbe dušikom na nodulaciju i neke komponente prinosa i sam prinos graha. Rezultati su pokazali da je predstijetvena bakterizacija sjemena graha zrnaša Lingua di Fuoco sa sojem *R. phaseoli* DSM 30137 pri gnojidbi od 30 kgN/ha ostvaren optimalan prinos graha. S obzirom na prisutnu autohtonu populaciju kvržičnih bakterija u tlu neophodna su daljnja istraživanja koja bi razjasnila interakcije između bakterizacije sjemena, kultivara graha i optimalne gnojidbe dušikom.

Ključne riječi: grah, bakterizacija, gnojidba, kvržice, komponente prinosa, prinos

Summary:

Beans is one of the most important crop that is used in the food and processing industry. In Croatia, the farmers rarely turning to the cultivation of this crop, although it is considered as a good precrops. This paper presents research on the influence of beans seed bacterization, bean cultivars and nitrogen fertilization on nodulation some yield components and yield of beans. The results showed that the inoculation of beans seeds cv. Lingua di Fuoco with *R. phaseoli* strain DSM 30137 in the fertilization of 30 kg N/ha achieved optimum yield of beans. Due to the presence of indigenous population of rhizobia in the soil further studies are necessary to clarify the interaction between seed inoculation, cultivars of beans and the optimum nitrogen fertilization.

Key words: beans, bacterization, fertilization, nodules, yield components, yield

Datum obrane: